

多倍體化與 2n 配子於花卉育種之應用

郭嫻婷¹⁾、劉明宗¹⁾、楊佐琦¹⁾

¹⁾農委會種苗改良繁殖場 副研究員 (通訊作者)、副研究員兼課長、場長

地址：426 台中縣新社鄉大南村興中街 6 號

電話：04-25825459

電子信箱：klt@tss.gov.tw

摘要：多倍體化是植物提昇適應性及物種形成的主要機制之一，植物當中有相當高比例的種類有多倍體化的情形，主要是經過內生多倍體化（或稱體細胞染色體倍增）及 2n-配子（又稱未減數配子）雜交的途徑而來。人工誘導多倍體的藥劑，大多使用秋水仙素等抗微管藥劑，效果會受到施用濃度、時間、培植體形式及藥劑滲透程度而異。而 2n 配子的形成則以一氧化二氮具有較佳的誘導效果，利用 2n 配子誘導多倍體，可增加多倍體的異質結合性，且染色體重組的機率較高，是極具潛力的多倍體育種方法，本文希望藉由回顧近代花卉作物多倍體育種的相關文獻，以進一步了解多倍體及 2n 配子形成的機制與相關應用，將有助於開創花卉育種的新途徑。

關鍵字：多倍體化、花卉育種、2n 配子、秋水仙素、一氧化二氮、遠緣雜交

前言

多倍體 (polyploidy) 被認為是植物適應環境及演化的一個重要的機制 (Ramsey and Schemske, 1998)，植物多倍體化後會使細胞及器官加大，發生所謂的巨大效應 (giga's effect)，常見的表現包含葉片短而厚圓、節間變短或芽體變粗等。此外，多

倍體也有穩定性較差、導致木材易脆裂、果實含水量過高、生長遲滯及畸型等缺點 (Ranney, 2006; Sarathum *et al.*, 2010), 但在花卉育種上仍具有其特殊吸引力, 因多倍體所產生的圓整花型、厚質花瓣、大型花朵或重瓣等特性 (Chen, 2009; Kermani *et al.*, 2003; Ning *et al.*, 2009; Vichiato *et al.*, 2014; 葉等, 2011), 都是提昇花卉觀賞價值的重要目標之一。多倍體除了直接、快速的種化 (speciation)、產生創新品種之外, 亦可應用於克服遠緣雜交之親本不親和或 F_1 不稔等問題 (邱和王, 2011; Van Tuyl, 2003)。此外, $2n$ 配子被認為是自然界多倍體產生的主要來源 (Dewitte, *et al.* 2012), n 代表減數分裂後配子體所含的染色體數, 因此 $2n$ 配子即是指和體細胞有著相同染色體數的配子, 又稱未減數配子 (unreduced gametes), 利用 $2n$ 配子進行雜交產生多倍體的方式, 相較於體細胞染色體倍增 (somatic doubling), 具備更高的雜交優勢及染色體重組機率, 較易將外來基因導入品種, 達到漸滲雜交 (introgression) 之目的, 因而逐漸成為受關注的多倍體育種方法 (吳等, 2011; Ramanna and Jacobsen, 2003; Younis *et al.*, 2014)。本文希望藉由回顧並了解多倍體、 $2n$ 配子的形成機制及近代相關研究進展, 以助於開創未來花卉育種的新篇章。

多倍體的類型

被子植物產生多倍體的機率很高, 依不同種類有 47%~70% 的比例 (Ramanna and Jacobsen, 2003), 顯花植物當中, 發生頻率可達 1:100,000 (Teixeira da Silva *et al.*, 2014)。許多現今為二倍體的植物種類其實曾為多倍體, 稱之為古多倍體 (paleopolyploids), 在其演化過程中至少經歷一次的全基因組倍增 (whole-genome duplication), 隨後發生了大量的基因缺失及基因重組而成為現今的二倍體, 這樣的過程又稱為二倍體化 (diploidization), 例如阿拉伯芥、稻米及玉米等。相對於古多倍體, 新形成的多倍體則稱為新多倍體 (neopolyploids) (夏等, 2010; Tamayo-Ordonez *et al.*, 2016)。在多倍

體的植物種類如蕓薹屬 (*Brassica*) 及棉花屬 (*Gossypium*) 的相關研究當中，其生理及形態的適應性相較於其二倍體的先祖，不論是對非生物或生物性危害的抗性皆有所提昇 (Tamayo-Ordonez *et al.*, 2016)，這或許是植物為何會在演化過程中發生多倍體化的理由之一。

除了依據多倍體形成的時期來分類外，當多倍體所含的每一單套染色體組來自同一物種時，稱為同源多倍體 (autopolyploidy)，而來自不同種之單套染色體者，則稱為異源多倍體 (allopolyploidy) (Ramsey and Schemske, 1998)，同源多倍體通常來自於整組基因的倍增，而異源多倍體則來自於不同種間、屬間的個體雜交，因此異源多倍體相對上具有較高的異質結合性 (heterozygosity)，具備雜種優勢 (heterosis) 及高活力的特性，相對之下，同源染色體則接近經過「自交」(inbred) 的效應，易有活性及稔性下降的情形 (Ranney, 2006)，然而異源多倍體及同源多倍體間也沒有絕對的界限，染色體組間的同源性 (homology) 越高，則染色體配對越容易、越接近同源多倍體，因此這類型又稱為部分異源多倍體 (segmental allopolyploidy) (Comai, 2005)。

多倍體的形成機制

在自然情形下，多倍體形成的機制主要有二種，分別為內生多倍體化 (endopolyploidization) 及藉由 $2n$ 配子雜交所產生的多倍體。

一、內生多倍體化：

內生多倍體化或體細胞染色體倍增 (somatic doubling) 發生的原因主要是因細胞分裂過程當中，由 G2 期進入 M 期的調控發生問題，導致細胞染色體倍增但未進行胞質分裂 (cytokinesis)，這樣的情形在合子組織 (zygotic tissue)、胚組織及配子體組織當中都可見 (Comai, 2005)。內生多倍體化發生的情形在被子植物當中相當的普遍，且倍體數最高可達到 $24,576C$ ($1C$ 為配子 DNA 含量)，但在裸子植物則似乎無此情

形 (Barow, 2006)。內生多倍體出現之頻率會依不同植物種類而有差異，花卉作物當中如蘭科 (Orchidaceae)、石竹科 (Caryophyllaceae)、鳶尾科 (Iridaceae)、風信子科 (Hyacinthaceae) 等皆屬於內生多倍體發生頻率高的花卉種類，而薔薇科 (Rosaceae)、菊科 (Asteraceae)、百合科 (Liliaceae)、石蒜科 (Amaryllidaceae) 等，則因內生多倍體發生機率低，而被歸屬於「非內生多倍體」(non-endopolyploid) 的類型 (Barow and Meister, 2003; Barow, 2006)。多倍體細胞在植物體的不同器官及組織的分佈也有差異，如絨毛 (trichomes) 通常含有高比例的內生多倍體發生，而保衛細胞則是最少的。多倍體細胞的產生會受到溫度、光照、營養、植物荷爾蒙等影響，也被推測是認為與加速生長及適應環境有關 (Barow, 2006)。

二、2n 配子與多倍體的形成：

2n 配子被認為是自然界產生多倍體的主要途徑，且幾乎所有植物種類或多或少皆會產生 2n 配子 (Dewitte *et al.* 2012; Ramanna and Jacobsen, 2003)。2n 配子產生的機制主要是減數分裂異常所發生，包含減數分裂前的染色體倍增、不正常的染色體配對、聯會突變、異常的紡錘絲朝向及胞質分裂的提前發生等 (Younis *et al.*, 2014)。植物當中的 2n 配子主要分為兩類：第一次核分裂重組型 (first division restitution, FDR) 及第二次核分裂重組型 (second division restitution, SDR)，FDR 型 2n 配子是指減數分裂第一次的同源染色體分離未發生，後續姊妹染色體 (sister chromatids) 分離便產生與體細胞完全相同的 2n 配子；SDR 則是第一次同源染色體分離正常，而第二次分離時姊妹染色體未分開，產生與正常配子組合相似的配子 (僅具有父、或母本之一的同源染色體)，只是套數是 2 套 (Younis *et al.*, 2014)。一般在雜交個體當中產生未減數配子的比例 (27.52%) 遠高於非雜交個體 (0.56%) 將近 50 倍，尤其種間雜交個體 (interspecific hybrids)，常有不規則的減數分裂情形，染色體配對不正常、或未正常分離而導致 2n 配子的產生機率大增 (Ramsey and Schemske, 1998)。另外，營養及環

境也會影響 $2n$ 配子的發生，如熱休克 (heat shock) 處理可使原為不稔性的百合產生 $2n$ 配子而恢復稔性，而玫瑰在高溫梯度下也會有 $2n$ 配子的產生 (Younis *et al.*, 2014)

有絲多倍體化 (mitotic polyploidization) 育種

在多倍體育種工作當中，利用化學藥劑或物理性方式誘導產生體細胞染色體倍增的方式稱為有絲多倍體化，依誘導的方式可分為物理性及化學性誘導：

一、化學性誘導

多倍體育種常用的化學藥劑為抗微管 (anti-microtubule) 藥劑，主要是透過阻礙正常的細胞分裂而產生多倍體，秋水仙素 (colchicine)、歐拉靈 (oryzalin)、三多靈 (trifluralin)、甲基胺草磷 (amiprofos-methyl) 及一氧化二氮 (N_2O) 等。除了一氧化二氮是以氣體方式處理，其餘多以溶液方式處理。各種藥劑當中又以秋水仙素被使用得最為廣泛 (林等, 2013; 夏等, 2010; Griesbach, 1981; Saranthum *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2000; Vichiato *et al.*, 2014; Yenchon and Te-chato, 2014)，歐拉靈則因為其和植物微小管的親合性優於與動物微小管的親合性，因此被認為安全性較高且產生畸型的副作用較秋水仙素輕微，因此也被應用於各種花卉的多倍體育種，包含玫瑰 (Kermani *et al.*, 2003)、杜鵑 (Jones, *et al.*, 2008)、蘭科植物 (夏等, 2010; Miguel and Leonhardt, 2011)、百合及納麗石蒜 (Van Tuyl *et al.*, 1992) 等。

化學藥劑誘導多倍體的研究當中，可觀察到藥劑種類、處理濃度、處理時間、施用方式 (浸泡、培養於含有藥劑之培養基、混合羊毛脂等) 及培植體類型等因素皆會影響誘導效果。在石斛蘭擬原球體 (protocorm like body) 處理秋水仙素的試驗中指出，隨著處理濃度及處理時間的延長，除了死亡率提高以外，也容易產生無用的高倍體 (超過四倍體以上的倍體數)，處理濃度高於 0.07%，經處理 21 天後，會有 50% 以

上的 6n 及 8n 高倍體數發生率 (Sarathum *et al.*, 2010)。而處理的材料類型也會影響誘導效果，以蘭科作物而言，擬原球體是屬於未分化的胚性細胞 (embryonic cell)，普遍被認為是較好的多倍體誘導材料 (Miguel and Leonhardt, 2011; Silva *et al.*, 2000)。此外，因為細胞大小、生長速度及細胞分裂時間皆存在著梯度的差異，因此藥劑誘導多倍體容易產生嵌合體 (chimera)，為提高藥劑的滲透率，Jones 等人 (2008) 利用添加 Oryzalin 的洋菜膠點加於杜鵑幼苗之莖頂分生組織，增加處理次數 (每隔 1 天處理 1 次，最多 4 次)，可使藥劑易於滲入莖頂分生組織之 L1、L2 的外帶層及 L3 的內層。玫瑰的莖節橫切片，以 1mm 的厚度進行處理，也被認為有助於提高藥劑的滲透性 (Kermani *et al.*, 2003)。此外，夏等人於 2010 年利用秋水仙素誘導金線連莖節產生多倍體的試驗當中，比較秋水仙素處理前後，將培植體培養於含 BA (6-Benzylaminopurine) 的培養基當中，產生嵌合體的機率分別為 6.4% 及 23%，推測處理秋水仙素前以 BA 預培養可使細胞同質生長，減少嵌合體的發生。

二、物理性誘導

物理性因素也會誘導內生多倍體的發生，如溫度及光度會影響蘭花的內生多倍體化 (Barow, 2006; Lee *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2010) 然而相對於化學性誘導多倍體，在物理性誘導方面的效率及應用性都較低，實際應用物理性方式誘導獲得多倍體的例子也極少。然而 Chen 等人 (2009) 利用蝴蝶蘭的擬原球體基部較易發生內生多倍體化的特性，經過多次橫切，可誘導多倍體蝴蝶蘭的產生，此方式之所以能成功的原因可能在於與蘭科作物本身具備「易於內生倍體化」的特性有關 (Barow, 2006)。

三、誘導 2n 配子的形成

一般化學性誘導及物理性誘導染色體倍增的方式，基本上在誘導 2n 配子方面也有相似的效果，差別僅在於染色體倍增是發生在配子形成過程 (Dewitte, *et al.* 2012;

Younis, 2014)。此外，一氧化二氮也被認為具有良好的 2n 配子誘導效果，曾被應用於蝴蝶蘭 (Wongprichachan *et al.*, 2013)、百合 (Barba-Gonzalez *et al.*, 2004) 及秋海棠 (Dewitte *et al.*, 2010) 等花卉作物。也有利用咖啡因注入百合幼花苞，成功使百合節間雜交(intersectional hybrid)的 F₁ 產生 2n 配子，進而恢復稔性的例子(Lim *et al.*, 2005)，但咖啡因則較少被應用於其他體細胞染色體倍增。此外，另一個潛力誘導 2n 配子的方式，是利用遠緣雜交後代產生 2n 配子，但因不同種進行雜交所產生 2n 配子的機率不同 (Ramanna *et al.*, 2003)，加上 2n 配子的形成也易受環境影響 (Ramanna and Jacobsen, 2003)，因此需要經過大量的篩選與分析才能獲得易產生 2n 配子的組合。

2n 配子在花卉育種的應用-有性多倍體化 (sexual polyploidization)

相對於有絲多倍體化，應用 2n 配子誘導多倍體的過程，因需經過減數分裂產生配子而後再進行雜交，因此又被稱為減數多倍體化 (meiotic polyploidization) 或有性多倍體化。

2n 配子可應用在三倍體育種，利用 2n 配子與正常 n 配子雜交，可直接獲得三倍體，可節省先取得四倍體再與二倍體雜交的時間，縮短育種時程 (吳等, 2011)，而三倍體雖被認為多具備不稔性，但偶然會產生單倍 (haploid) 或 2n 配子，再與二倍體雜交或回交產生四倍體或二倍體等，可作為育種橋接的角色 (Comai, 2005; Ramanna and Jacobsen, 2003)。

在遠緣雜交的應用上，經由種間或屬間雜交產生的 F₁，雖然可以透過染色體加倍成為異源多倍體，使染色體配對達到平衡來恢復稔性，但因為同源染色體間會優先配對，因此兩個不同基因組的親本之間無法發生基因重組 (吳等, 2011; Barba-Gonzalez *et al.*, 2004; Ramanna and Jacobsen, 2003)。利用秋水仙素處理 *L. longiflorum* 和 *L. rubellum* 的雜交 F₁ (LR)，使產生雙二倍體的 F₁ (amphidiploid) (LLRR)，利用基因

組原位雜交的技術 (genomic in situ hybridization, GISH)，可觀察到 L 與 R 兩基因組間並無重組的發生，因為同源配對僅發生於 L-L 及 R-R (Lim *et al.*, 2000)。然而若應用 2n 配子，則可突破此限制：在百合水仙 (*Alstroemeria*) 之種間雜交 F₁，因為 2n 配子的產生，可自交獲得 F₂，且利用 GISH 可觀察到染色體間的重組 (Ramanna *et al.*, 2003)；同樣的，重組也發生在百合之東方型及亞洲型雜交種 (Oriental x Asiatic, OA) F₁ 所產生的 2n 配子與親本雜交產生的 BC₁ 中 (Barba-Gonzalez *et al.*, 2004)，有趣的是，前述兩者的 2n 配子幾乎都是屬於 FDR 型。FDR 型 2n 配子可傳遞約 80% 親本的異質結合性，SDR 型則只能傳遞約 40% 的異質雜合性，因此 FDR 具有較佳的異質結合傳遞效率 (吳等, 2011; Dewitte *et al.* 2012)。由此可見，有絲多倍體化僅能使染色體加倍，而無新的遺傳組合產生，後續便較難創造新的品種，加上染色體倍加會增加同質性，利用 2n 配子則可提高異質結合性 (heterozygosity)，具有雜交及多倍體的優勢，又可省去秋水仙素等化學藥劑處理之步驟，也減少嵌合體及混倍體 (mixoploidy) 產生的機會，同時也被認為較適切、穩定及多產 (Brownfield and Kohler, 2011)。

目前 2n 配子在許多作物的育種研究皆有相關應用 (Dewitte *et al.* 2012; Ramanna and Jacobsen, 2003)，但其發生率仍被認為太低且無法掌控 (Ramanna and Jacobsen, 2003)，因此，也有相關誘導 2n 配子或提高其發生機率的方式被開發，如一氧化二氮、秋水仙素等藥劑誘導方式 (Dewitte *et al.* 2012; Younis, 2014)。近年來，在影響細胞分裂及減數分裂等相關基因的研究也有所進展，如週期素依賴酶基因 (cyclin-dependent kinases, *CDKs*)、週期素基因 (cyclins, *CYC*s)、週期素 TAM 基因 (tardy asynchronous meiosis, *TAM*) 及省略第 2 次減數分裂基因 (omission of second division 1, *OSD1*) 等，皆會受外在因素影響及調控，包含溫度、黑暗及生長調節劑等，與多倍體或 2n 配子的發生會受環境因素影響的情況相符 (Tamayo-Ordonez *et al.*, 2016)。另外，也在阿拉伯芥當中發現不同的「配子發生突變種」，*ApsI* (*Arabidopsis parallel spindle I*) 和 *jason*，

這類突變種因減數分裂異常而產生 $2n$ 配子，但僅限於雄配子；突變種 *osd1*、*cycal* 和 *2/atm* 則會同時影響雄配子及雌配子的形成，利用這些突變種易產生 $2n$ 配子的特性，亦可應用於快速獲得四倍體 (Brownfield and Kohler, 2011)。這些相關基因的研究和機制的解明，也增加了「基因層次」的多倍體育種技術開發的可能性。

結論

多倍體在植物當中被發現已超過一百年 (Ramanna and Jacobsen, 2003)，並且被應用於許多不同作物的育種，由於多倍體的產生為植物體本身創造許多提昇適應力的機會，因著劑量效應 (dosage-regulated)、表現遺傳作用 (epigenetic change) 及類突變 (paramutation) 等效應，甚至能夠超越原來的物種，改進了耐旱性、無融合生殖 (apomixis) 發生機率、抗蟲性、開花時間、器官大小及生物質量等 (Comai, 2005; Osborn *et al.*, 2003)。除了多倍體化本身帶來的新特性以外，相關文獻也指出多倍體個體本身具有較高的突變機率 (林等, 2013; Chen, 2009; Teixeira da Silva *et al.*, 2014)，如長筒花 (*Achimenes*) 的同源多倍體突變率高於二倍體 20-40 倍 (Broertjes, 1976)，因此在突變育種上也有其應用的潛力。此外，隨著相關報告指出 $2n$ 配子在不同作物間應用於多倍體育種的有效性和優勢，可預期 $2n$ 配子將成為一個重要的育種方法。近年來細胞分裂在分子層次上的研究也逐漸增加，將開啟未來應用基因改造 (gene modification) 來創造多倍體植物或調控 $2n$ 配子形成的機會 (Tamayo-Ordonez *et al.*, 2016)，進而加速多倍體育種在花卉的應用，開創出更加新穎、優良的種類，豐富花卉市場。

引用文獻

- 林依潔、鄭雅銘、張正。2013。扇形文心蘭誘變育種。興大園藝。38(4):81-94。
- 邱金春、王三太。2011。遠緣雜交育種障礙及克服策略。農業試驗所技術服務季刊。85:19-22。
- 吳紅芝、石景峰、鄭思鄉、張敬雨、周滌。2011。彩色馬蹄蓮 2n 花粉誘導及其三倍體植株的獲得。農業生物技術學報。19(4):662-668。
- 夏奇鈺、陳威臣、曹進義。2010。多倍體植物的產生、利用與展望。農業試驗所技術服務季刊。84:14-17。
- 葉志新、李淑真、廖芳心、葉育哲、蔡月夏、蔡媚婷。2011。蝴蝶蘭之雜交育種。2011 年花卉研究團隊成果發表會專刊。p25-34。
- Barba-Gonzalez, R., A. C. Lokker, K. B. Lim, M. S. Ramanna, and J. M. Van Tuyl. 2004. Use of 2n gametes for the production of sexual polyploids from sterile Oriental X Asiatic hybrids of lilies (*Lilium*). Theor. Appl. Genet. 109:1125-1132.
- Barow, M. and A. Meister. 2003. Endopolyploidy in seed plants is differently correlated to systematics, organ, life strategy and genome size. Plant Cell Environ. 26: 571-584.
- Barow, M. 2006. Endopolyploidy in seed plants. BioEssays 28:271-281.
- Broertjes, C. 1976. Mutation breeding of autotetraploid *Achimenes* cultivars. Euphytica 25:297-304.
- Brownfield, L. and C. Kohler. 2011. Unreduced gamete formation in plants: mechanisms and prospects. J. Exp. Bot. 62(5):1659-1668.
- Chen, W. H., C. Y. Tang, and Y. L. Kao. 2009. Ploidy doubling by in vitro culture of excised protocorms or protocorm-like bodies in *Phalaenopsis* species. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 98:229-238.
- Comai, L. 2005. The advantages and disadvantages of being polyploid. Nat. Rev. Genet. 6: 836-846.
- Dewitte, A., K. Van Leara, and J. Van Huylenbroeck. 2012. Use of 2n gametes in plant breeding. Plant Breeding, Dr. Ibromkhim Abdurakhmonov (Ed.) InTech.
- Dewitte, A., T. Eeckhaut, J. V. Huylenbroeck, and E. V. Bockstaele. 2010. Induction of 2n pollen formation in *Begonia* by trifluralin and N₂O treatments. Euphytica 171:283-293.
- Griesbach, R. J. 1981. Colchicine-induced polyploidy in phalaenopsis orchids. Plant Cell Tissue Organ Cult. 1:103-107.

- Jones, J. R., T. G. Ranney, and T. A. Eaker, 2008. A novel method for inducing polyploidy in *Rhododendron* seedling. *J. Amer. Rhododendron Soc.* 62:130–135.
- Kermani, M. J., V. Sarasan, A. V. Roberts, K. Yokoya, J. Wentworth, and V. K. Sieber. 2003. Oryzalin-induced chromosome doubling in *Rosa* and its effect on plant morphology and pollen viability. *Theor. Appl. Genet.* 107:1195-1200.
- Lee, H. C., Y. J. Chen, A. H. Markhart, and T. Y. Lin. 2007. Temperature effects on systemic endoreduplication in orchid during floral development. *Plant Sci.* 172:588-595.
- Lim, K. B., J. D. Chung, B. D. E. van Kronenburg, M. S. Ramanna, J. H. de Jong, and J. M. van Tuyl. 2000. Introgression of *Lilium rubellum* Baker chromosomes in to *L. longiflorum* Thunb.: A genome painting study of the F₁ hybrid, BC₁ and BC₂ progenis. *Chrom. Res.* 8:119-125.
- Lim, K. B., R. Barba-Gonzalez, S. Zhou, M. S. Ramanna, and J. M. van Tuyl. 2005. Meiotic polyploidization with homoeologous recombination induced by caffeine treatment in intersecifi lily hybrids. *Korean J. Genetics* 27(3):219-226.
- Miguel, T. P. and K. W. Leonhardt. 2011. In vitro polyploid induction of orchids using oryzalin. *Sci. Hortic.* 130:314-319.
- Ning, G. G., X. P. Shi, H. R. Hu, Y. Yan, and M. Z. Bao. 2009. Development of range of polyploidy lines in *Petunia* hybrid and the relationship of ploidy with the single-/double-flower trait. *Hort. Sci.* 44(2)250-255.
- Osborn, T. C., J. C. Pires, J. A. Birchler, D. L. Auger, Z. J. Chen, H. S. Lee, L. Comai, A. Madlung, R. W. Doerge, V. Colot, and R. A. Martienssen. 2003. Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends Genet.* 19(3):141-147.
- Park, S. Y., E. C. Yeung, and K. Y. Paek. 2010. Endoreduplication in *Phalaenopsis* is affected by light quality from light-emitting diodes during somatic embryogenesis. *Plant Biotech. Rep.* 4:303-309.
- Ramanna, M. S., A. G. J. Kuipers, and E. Jacobsen. 2003. Occurrence of numerically unreduced (2n) gametes in *Alstroemeria* intersecific hybrids and their significance for sexual polyploidisation. *Euphytica* 133:95-106.
- Ramanna, M. S. and E. Jacobsen. 2003. Relevance of sexual polyploidyization for crop improvement- A review. *Euphytica* 133:3-18.
- Ramsey, J. and D. W. Schemske, 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29:467-504.

- Ranney, T. G. 2006. Polyploidy: from evolution to new plant development. *Comb Proc Intern Plant Propagators' Soc* 46:137–142
- Sarathum, S., M. Hegele, S. Tantivivat, and M. Nanakorn, 2010, Effect of concentration and duration of colchicine treatment on polyploidy induction in *Dendrobium scabrilingue* L. *Europ. J. Hort. Sci.* 75(3):123-127.
- Silva, P. A. K. X. M., S. Callegari-Jacques, and M. H. Bodanese-Zanettini. 2000. Induction and identification of polyploids in *Cattleya intermedia* Lindl. (Orchidaceae) by in vitro techniques. *Ciência Rural* 30, 105—111.
- Tamayo-Ordonez, M. C., L.A. Espinosa-Barrera, Y.J. Tamayo-Ordonez, B. Ayil-Gutierrez, and L. F. Sanchez-Teyer. 2016. Advances and perspectives in the generation of polyploid plant species. *Euphytica* 209:1-22.
- Teixeira da Silva, J. A., D. T. T. Giang, J Dobranszki, S. Zeng and M. Tanaka. 2014. Ploidy analysis of *Cymbidium*, *Phalaenopsis*, *Dendrobium* and *Paphiopedilum* (Orchidaceae), and *Spathiphyllum* and *Syngonium* (Araceae). *Biologia (sect. Botany)*. 69 (6):750–755.
- Van Tuyl, J. M. 2003. Interspecific hybridisation and polyploidisation as tool in ornamental plant breeding. *Acta Hort.* 612: 13–22.
- Van Tuyl, J.M., B. Meijer, and M.P. van DiËn, 1992. The use of oryzalin as an alternative for colchicine in in vitro chromosome doubling of *Lilium* and *Nerine*. *Acta Hort.* 325: 625–630.
- Vichiato, M. R. de M., M. Vichiato, M. Pasqual, F. A. Rodrigues, and D. M. de Castro. 2014. Morphological effects of induced polyploidy in *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae) . *Crop Breed. Appl. Biot.* 14:154-159.
- Wongprichachan, P., K. L. Huang, Y. M. Chou, S. T. Hsu, T. Y. Liu, and H. Okubo. 2013. Induction of unreduced gametes in *Phalaenopsis* by N₂O treatments. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.* 58(1):27-31.
- Yenchon, S. and S. Te-chato. 2014. Polyploidy induction of *Dendrobium formosum* by colchicine treatment in vitro. *Acta Hort.* 1025:81-88.
- Younis, A., W. J. Hwang, and K. B. Lim. 2014. Exploitation of induced 2n-gametes for plant breeding. *Plant Cell Rep.* 33:215-223.

Application of Polyploidization and 2n gametes in Flower Breeding

Lan-Ting Kuo¹⁾ 、Ming-Chung Liu¹⁾ 、Tso-Chi Yang¹⁾

¹⁾ Associate Researcher, Associate Researcher and chief of PBVP section, Director
Taiwan Seed Improvement and Propagation Station, council of Agriculture, Executive
Yuan, No. 6, Da Nan, Shing Sher Township, Taichung City, Taiwan, R.O.C.

TEL : 886-4-25825459

E-mail : klt@tss.gov.tw

Summary : Polyploidization is an important mechanism for plants to improve adaptation and speciation. There is a relative high frequency of polyploidization occurred in plants. Polyploidy is mainly induced by two mechanisms: endopolyploidization (somatic doubling) and 2n-gametes (unreduced gametes). As to artificial methods to induce polyploidy, anti-microtubule agents, such as colchicines, have been the most widely used, and effective of polyploidy induction depends highly on the concentration, duration, type of explants and penetration. Nitrous oxide (N₂O) treatments have been reported to be an effective way to induce 2n gametes. Due to the higher effectiveness of transmitting heterozygosity and inter-genomic recombination, use of 2n-gametes is a potential way for polyploidy breeding. It could help us to understand the mechanisms of formation and application of polyploidy and 2n-gametes through reviewing recent research on breeding for polyploids in flowers. In the foreseeable future, polyploidization will going to opened up an entirely new avenue of flower breeding.

Key words : polyploidization, flower breeding, 2n-gametes, colchicine, nitrous oxide, interspecific hybridization